

FOOD&CHEMISTRY

Effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* L. extract powder on alcohol degradation and hepatoprotection in mice alcohol model

Ju-Hye Kim^{1,2,†}, Heejin Park^{2,†}, Mun-Hyoung Bae³, Youngha Seo³, Eun-Young Gu², Taek-Keun Oh^{1,*}, Byoung-Seok Lee^{2,*}

¹Department of Bio-Environmental Chemistry, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

²Department of Advanced Toxicology Research, Korea Institute of Toxicology (KIT), Daejeon 34114, Korea

³Functional Materials Research Team, Rpbio Research Institute, Rpbio Co., Ltd., Suwon 16229, Korea

[†] These authors equally contributed to this study as first author.

*Corresponding authors: ok5382@cnu.ac.kr, bslee@kitox.re.kr

Abstract

Cordyceps militaris L. (*C. militaris*) has been traditionally used as tonic medicine for metabolic syndrome. Cordycepin, has been reported with immunomodulatory, antitumor, and hepatoprotective effect, is the main extract from *C. militaris*. This study was conducted to evaluate the alcohol degradation and hepatoprotective effect of cordycepin-enriched *C. militaris* extract (CM) powder in chronic and binge ethanol (ethanol Lieber-DeCarli diet)-fed male C57BL/6 Mice. Cordycepin-enriched *C. militaris* extract powder was orally administered once daily at dose levels of 0, 125, 250, and 500 mg · kg⁻¹ · day⁻¹ for 16 days. For evaluating alcohol degradation, ethanol concentration and alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity were measured in serum. Serum ethanol (EtOH) concentration was decreased at CM treated groups, and the activities of ADH and ALDH were increased dose-dependently at CM treated groups compare to EtOH model group. In clinical chemistry, the values of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were lower in CM treated groups than those in EtOH model group. Additionally, absolute and relative (to body weight) liver weights were statistically decreased in the CM treated groups compared to the EtOH model group. In conclusion, our study showed that cordycepin-enriched *C. militaris* extract powder exhibits hepatoprotective effect by upregulating the ADH and ALDH enzyme in an alcoholic liver disease model.

Keywords: alcohol, alcohol-induced hepatic steatosis, *Cordyceps militaris* extract, liver damage

OPEN ACCESS

Citation: Kim JH, Park H, Bae MH, Seo Y, Gu EY, Oh TK, Lee BS. 2024. Effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* L. extract powder on alcohol degradation and hepatoprotection in mice alcohol model. Korean Journal of Agricultural Science 51:169-178. <https://doi.org/10.7744/kjoas.510207>

Received: March 20, 2024

Revised: April 01, 2024

Accepted: May 02, 2024

Copyright: © 2024 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

간(liver)은 인체 내에서 크기가 가장 큰 장기로, 주 기능으로는 소화 및 배설 기능, 영양분 저장, 신규 물질 합성, 독성물질 해독 등 생존을 위한 중요한 기능을 담당한다(Jo et al., 2008). 또한, 간은 다양한 물질들이 혈류를 통해 이동할 수 있으며, 이는 독성 물질의 침투 경로로 작용할 수 있다. 특히, 지속적인 알코올(alcohol)의 섭취는 간을 통해 인체에 흡수되어 간세포 장애를 초래하며, 그 외에도 지방간, 간경변, 간암 등을 유발하는 것으로 알려져 있다(Lieber, 1994). 알코올 섭취량과 간 관련 질병의 발병률의 상관관계를 분석한 선행연구에서는 대부분의 사람들은 알코올 섭취량이 증가함에 따라 간 관련 질환의 발병률이 증가하나, 알코올 대사에 영향을 주는 유전적 요인과 개인의 감수성에 따라 차이가 존재한다고 보고하였다(Kim et al., 2004).

인체에 유입된 알코올(C_2H_6O)은 혈액을 통해 간으로 이동하며 acetaldehyde (C_2H_4O)와 acetate ($C_2H_3O_2$)로 순차적으로 산화된다(Eriksson et al., 2001; Yun et al., 2023). 알코올 대사과정에 주로 3가지 효소가 관여하는데 세포질 주변에 존재하는 효소인 alcohol dehydrogenase (ADH)에 의해 acetaldehyde (C_2H_4O)와 ketone이 생성된다. 또한, microsome의 알코올산화시스템(microsomal ethanol-oxidizing system, MEOS)을 거치는 경로가 있는데 주로 CYP2E1 (Cytochrome P450 2E1)가 관여하며 과량의 알코올 섭취 또는 만성적 섭취 시 그 활성이 증가된다(Bradford et al., 2005). 마지막 산화경로는 조직의 peroxisome에 존재하는 catalase에 의한 것으로 알코올 대사에 미비한 영향을 끼친다. 위의 세 경로를 거쳐 알코올은 acetaldehyde (C_2H_4O)로 산화되고, 다시 acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) 효소에 의해 acetate ($C_2H_3O_2$)로 산화되어 최종적으로 이산화탄소(carbon dioxide, CO_2)와 물(H_2O)로 완전히 분해된다(Zakhari, 2006). 이 중에서 acetaldehyde는 ADH에 의해 분해되는 독성물질로서, 메스꺼움, 구토, 홍조 반응, 심박수 증가, 구강 건조, 그리고 두통 등을 유발한다(Yun et al., 2023). 이러한 증상은 대부분 acetaldehyde의 독성 반응, 혈중 농도 상승, 그리고 간 손상에 기인하며, 이들은 산화스트레스(oxidative stress)와 pro-inflammatory cytokine 생성 및 발현에 의한 염증 유발로 인해 발생된다(Sin et al., 2023).

마우스에게 사람과 유사한 알코올성 간손상을 유도하기 위한 NIAAA (National Institute Alcohol Abuse and Alcoholism) 모델이 보편적으로 사용되고 있다(Bertola et al., 2013). 이는 Liber-DeCarli 액상 식이를 이용하여 4-5%의 알코올을 투여하며 동시에 경구투여를 수행하여 단회 또는 다회성 알코올 폭음을 결합하여 지방간과 간염을 유도하는 방법이다. 이 방법은 간 효소 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST)의 활성을 증가시키고 간에서 CYP2E1의 발현을 증가시켜 알코올성 간 손상 또는 알코올 관련 기타 장기 손상연구의 동물 모델로 많은 실험에 활용되고 있다(Bertola, 2020).

동충하초(*Cordyceps militaris* L.)는 동충하초과에 속하는 버섯으로, 주로 나비목(Lepidoptera)의 유충 또는 번데기에 기생하여 주황색을 띠는 곤봉형자좌를 형성하는 곤충기생균(Entomopathogenic-fungi)이다(Jo et al., 2008). 국내에서는 주로 밀웜 혹은 누에를 이용하여 인공재배를 실시하였으며, 비타민 A과 미네랄 외에도 cordycepin와 같은 2차 대사 화합물이 포함되어 있는 것이 특징이다(Jeong and Choi, 2015). 동충하초 내 cordycepin은 항암, 항산화, 면역증강, 혈당 강화, 그리고 항균활성 등의 효과가 보고된 바 있으며, 이로 인해 건강기능성 식품 혹은 기능성 화장품 원료로 주목받고 있다(Jung and Kim, 2021).

본 연구에서는 *Cordyceps militaris* 추출물이 알코올성 간질환 기능에 미치는 영향을 평가하고, 기능 개선을 유도하는 근거를 찾기 위하여 동물시험을 실시하였다. 이를 위해 알코올성 질환을 유발한 간 손상 동물모델을 기초로 *Cordyceps militaris* 추출물의 알코올 분해 효과를 관찰하여 *Cordyceps militaris* 추출물의 간 기능 회복 능력에 대한 가능성을 규명하였다.

Materials and Methods

Test material

Cordyceps militaris 추출 분말(유효물질 Cordycepin 2.0% 이상 함유, COA, SK bioland, Korea)은 (주)알피바이오(Korea)로부터 제공받아 사용하였다. *Cordyceps militaris* 추출 분말은 상온에서 보관하였으며, 측정된 추출물 분말은 멸균 증류수와 함께 magnetic stirrer로 교반하여 조제하였다.

Animal and experimental design

10주령의 수컷 마우스(C57BL/6)는 (주)중앙실험동물(Korea)에서 공급받아 사용하였다. 마우스는 specific pathogen free animal (SPF) 동물실에 입수하였고, 순화를 위해 약 7일간 실험동물용 고체사료(Lab Diet® #5053, PMI Nutrition International, USA)와 음용상수도수를 정수시킨 물을 제한없이 공급하였다. 순화기간 후, 수컷 마우스의 정상 체중을 근거로 10마리씩 총 6개군으로 무작위 배정하였으며, 구분한 투여군은 다음과 같다(Table 1): 음성대조군(negative control), 알코올 대조군(EtOH model), *Cordyceps militaris* 추출 분말 투여군(EtOH + CM₁₂₅; EtOH + CM₂₅₀; EtOH + CM₅₀₀) 양성대조군(EtOH + Silymarin 250). 이때, CM은 처리한 *Cordyceps militaris* 추출 분말의 용량(mg·kg⁻¹)에 따라 구분하였으며, silymarin은 간 손상을 방지하는 항산화 물질(Muriel et al., 1992) 중 하나로 대표적인 간 질환 치료제로 사용되고 있다(Gillessen and Schmidt, 2020).

실험을 실시한 SPF 동물실 내 환경 조건은 온도 22 ± 3°C, 상대습도 50 ± 20%, 조명 12 h (08:00 - 20:00), 환기횟수 10 - 15회·h⁻¹, 조도 150 - 300 lux, 소음 60 dB 이하, 및 암모니아 농도 5 ppm 이하로 유지하였다. 수컷 마우스는 polycarbonate cage (L 39.0 cm × W 24.0 cm × H 18.0 cm)에 사육상자 당 5마리 이하로 수용하였다. 본 시험은 동물실험 윤리 규정의 준수에 따라 안전성평가연구소 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인(승인번호: 1803-0007)을 거쳐 수행되었다.

Table 1. Group designation and dose level.

Group	No. of animals	Inducer	Test material	Dose (mg·kg ⁻¹)
Negative control	10	Lieber-DeCarli control diet	N.T.	0
Alcohol control (EtOH model)	10	Lieber-DeCarli ethanol diet	N.T.	0
EtOH + CM ₁₂₅	10	Lieber-DeCarli ethanol diet	CM	125
EtOH + CM ₂₅₀	10	Lieber-DeCarli ethanol diet	CM	250
EtOH + CM ₅₀₀	10	Lieber-DeCarli ethanol diet	CM	500
Positive control (EtOH + Sil 250)	10	Lieber-DeCarli ethanol diet	Sil	250

EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin; N.T., not treated.

Diet, administration and observations

본 연구에서 수컷 마우스의 알코올성 간 손상의 유도를 위해 NIAAA model (Bertola et al., 2013)을 참조하여 Lieber-DeCarli 사료를 급여하였다. Lieber-DeCarli 액체식이 적응을 위해 5일간 급여하였으며 음성대조군을 제외하고 나머지 투여군은 사료 내 알코올의 농도를 점진적으로 증가시킨 ethanol diet를 급여하였다. 그 이후, 10일간 5% ethanol diet 또는 control diet를 급여하였으며, 11일째 40% ethanol diet 투여 9시간 후 희생하였다(Fig. 1). 총 16일간 실험 중 *Cordyceps militaris* 추출 분말(125, 250, 및 500 mg·kg⁻¹)과 silymarin (250 mg·kg⁻¹)은 모두 경구 투여(Fig. 2) 하였으며, 투여 전과 후로 구분하여 일반 증상을 관찰하고, 모든 마우스에 대해 주 1회 이상 체중 측정을 실시하였다.

투여기간 중 사료는 매일 조제하여 급여하였으며 사료 제공 중 물은 별도 제공하지 않았다. 알코올이 포함된 액체 사료(Lieber-DeCarli)와 알코올이 포함되지 않은 Lieber-DeCarli ethanol diet #710260 및 Lieber-DeCarli control diet #710027 (Dyets Inc., USA)로 구분하였다.

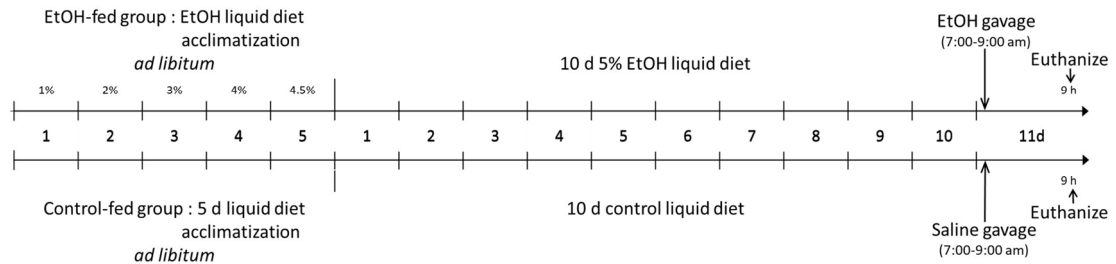


Fig. 1. The overview of the model procedure (modified National Institute Alcohol Abuse and Alcoholism [NIAAA] model). EtOH, ethanol.

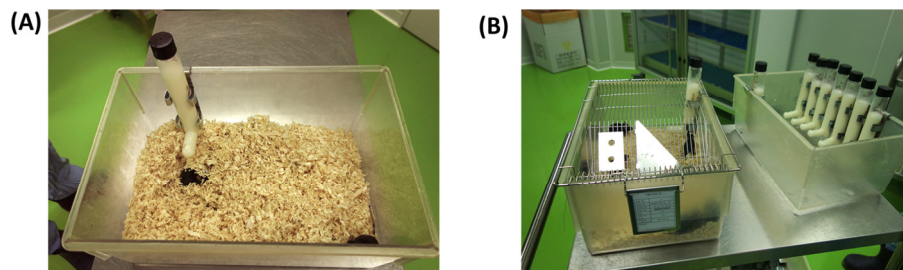


Fig. 2. Photographs of cages and drinking tubes. (A) Liquid diet feeding tube and holder. (B) Cage and feeding-tube setup.

Clinical pathology

모든 수컷 마우스는 부검 당일에 isoflurane으로 마취한 후에 개복하여 후대 정맥에서 주사기를 이용하여 채혈하였다. 채취한 수컷 마우스의 혈액은 진탕, 실온 방치(60분), 그리고 응고의 과정을 거쳐 전 처리하였으며, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 원심분리한 시료는 혈액생화학분석기(Toshiba 200FR NEO chemistry analyzer, Toshiba, Japan)를 이용하여 ALT과 AST를 측정하였다.

Determination of alcohol concentration, ADH and ALDH activities

채취한 혈청 시료는 알코올 농도, ADH 활성, 그리고 ALDH 활성 평가에 이용되었으며, 각각 Ethanol assay kit (C/F) (BioVision, Korea), Alcohol dehydrogenase activity assay kit (C) (BioVision, Korea), 그리고 Aldehyde dehydrogenase activity assay kit (C) (BioVision, Korea)를 사용하여 분석하였다.

Anatomical pathology

모든 생존 동물에 대하여 최종 계획부검을 실시하여 모든 장기의 부검소건을 관찰하였다. 간 전엽을 적출하여 전자저울로 중량을 측정하였으며 간 조직의 일부를 10% 중성 완충 포르말린(Sigma Aldrich, USA)에 고정하였다. 고정된 간 조직은 조직전처리, 포매, 박절하고 hematoxylin and eosin (H&E) 시약으로 염색 및 면역염색(anti-CYP2E1) 후 현미경으로 평가하였다.

Statistical analysis

통계분석은 Prisma system (Version 7.3 Xybio Medical System Co., USA)을 또는 Prism (Version 10.2.1, USA)을 이용하여 분석하였다. 군간 비교는 다중비교분석을 실시하였다. 데이터는 Bartlett's Test를 이용하여 등분산 검정을 실시한 후, 등분산된 데이터는 일원배치분산분석(ANOVA)으로 검정하고, 군간 차이는 Dunnett's test로 분석하였다. 등분산되지 않은 데이터는 Kruskal-Wallis test로 분석하고, CM 투여군과 알코올 대조군 간의 차이는 Dunn's rank sum test로 분석하였다. 음성대조군과 알코올 대조군은 등분산 검정을 위해 F-test를 실시하였다. 등분산된 데이터는 Student's t-test를 실시하고, 등분산되지 않은 데이터는 Wilcoxon rank sum test로 분석하였다. 수집된 데이터는 군간 평균과 표준편차로 나타내었으며, 통계적 유의성은 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 또는 $p < 0.0001$ 기준으로 하였다.

Results and Discussion

Body weight, body weight gain, and liver weight

시험 기간 중 음성대조군에 비해 알코올 대조군이 유의적인 차이는 없었지만 체중 감소현상이 관찰되었다. CM 투여군 125 mg·kg⁻¹ 이상에서는 CM 투여 7일부터 음성 대조군에 비하여 체중 감소가 관찰되었다. 최종 체중 측정 시(투여 16일), 알코올을 투여한 모든 투여군에서 체중 감소(최대 20.6%)가 관찰되었으나, CM 투여 군간에 차이는 나타나지 않았다. 양성대조군에서는 투여 16일에 유의적인 체중 감소현상이 관찰되었다(Table 2 and 3; Fig. 3).

Table 2. Time-course changes of body weight in ethanol feeding mice.

Group	Negative control	Alcohol control (EtOH model)	EtOH + CM ₁₂₅	EtOH + CM ₂₅₀	EtOH + CM ₅₀₀	Positive control (EtOH + Sil 250)
Initial body weight (g)	26.3 ± 1.7	26.4 ± 1.7	26.4 ± 1.5	26.5 ± 1.5	26.5 ± 1.5	26.6 ± 1.7
Final body weight (g)	29.1 ± 2.6	25.4 ± 1.6	23.6 ± 2.4**	23.4 ± 1.4**	23.1 ± 0.9**	24.7 ± 1.9*
Body weight gain (g·day ⁻¹)	2.7 ± 1.3	-0.9 ± 0.7	-2.8 ± 2.2**	-3.0 ± 1.0**	-3.4 ± 1.4*	-1.8 ± 0.7

Data are presented as mean ± standard deviation; n = 10 animals/group.

EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

* and ** denote the significant difference at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, compared to the alcohol control group.

Table 3. Change of the absolute and relative liver weight.

Groups	Liver weight	
	Absolute weight (g)	Relative weight ^z (%)
Negative control	0.960 ± 1.1317	3.302 ± 0.316
Alcohol control (EtOH model)	1.082 ± 0.9993 ⁺⁺	4.250 ± 0.227 ⁺⁺⁺
EtOH + CM ₁₂₅	0.956 ± 0.0940 ^{**}	4.058 ± 0.289
EtOH + CM ₂₅₀	0.906 ± 0.0829 ^{***}	3.863 ± 0.186 ^{***}
EtOH + CM ₅₀₀	0.884 ± 0.0366 ^{**}	3.832 ± 0.132 ^{***}
Positive control (EtOH + Sil 250)	0.972 ± 0.0902 [*]	3.927 ± 0.161 ^{**}

Data are presented as mean ± standard deviation; n = 10 animals/group.

EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

^z Relative weight means the ration of the liver weight in the terminal body weight.

⁺⁺ and ⁺⁺⁺ denote the significant differences at the $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to the negative control group.

*, **, and *** represent the significant differences at the $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to the alcohol control group.

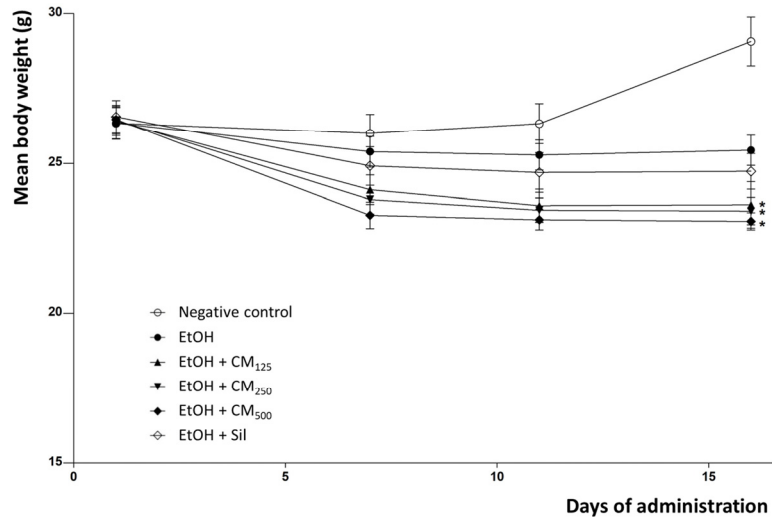


Fig. 3. Time-course changes of body weight in ethanol feeding mice (n = 10). Data are presented as mean \pm standard deviation. * and ** are used to indicate statistically significant differences at the $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively. EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

간의 절대 중량이 알코올을 투여한 모든 군에서 음성대조군에 비하여 통계적으로 증가하였다. CM 125 mg·kg⁻¹ 이상 투여군에서는 알코올 대조군에 비하여 간의 절대 및 상대(체중대비)중량의 감소가 관찰되었고, CM 250 mg·kg⁻¹ 이상 투여군에서는 양성대조군 보다 감소량이 다소 컸다(Table 3; Fig. 4).

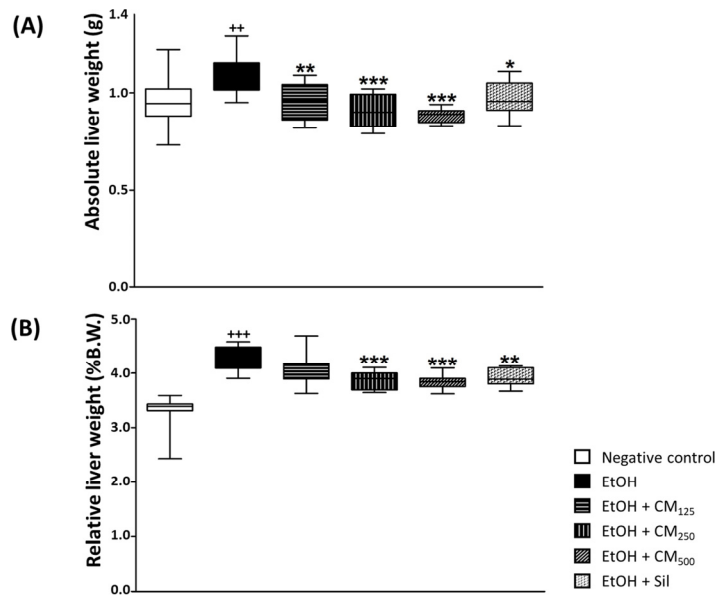


Fig. 4. Effect of *Cordyceps militaris* extract powder on the liver tissue absolute and relative weight in ethanol-induced liver model mouse. (A) Absolute weight (B) Liver/terminal body weight. ++ and +++ denote the significant differences at the $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to the negative control group. *, **, and *** represent the significant differences at the $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to the alcohol control group. B.W., body weight; EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

Clinical pathology

알코올을 투여한 모든 군에서 AST 및 ALT 활성 농도가 음성대조군에 비해 증가하였으며, ALT 활성은 CM 투여 군에서 알코올 대조군 대비 250, 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서 각각 16.2%와 34.7% 감소하는 경향을 나타내었지만 용량 상관성은 없었다(Fig. 5). 알코올 간 손상 유발 모델 흰 쥐에서 *Cordyceps militaris* 추출 분말 투여가 혈청 내 ALT 감소시킨 선행 연구와 유사한 결과이다(Cha et al., 2013).

간 세포 괴사와 간 조직이 손상되면 혈중으로 transaminase가 유리되어 다량의 AST 및 ALT의 효소가 방출되어 이 효소의 변화는 간 기능 임상 지표로 이용되는데 ALT는 거의 간에만 존재하여 간세포 손상의 좋은 지표로 알려져 있다(Kim, 2008, Kim et al., 2013). ALT가 감소한 결과는 *Cordyceps militaris* 추출 분말이 알코올로 인한 간 손상을 억제함을 의미한다.

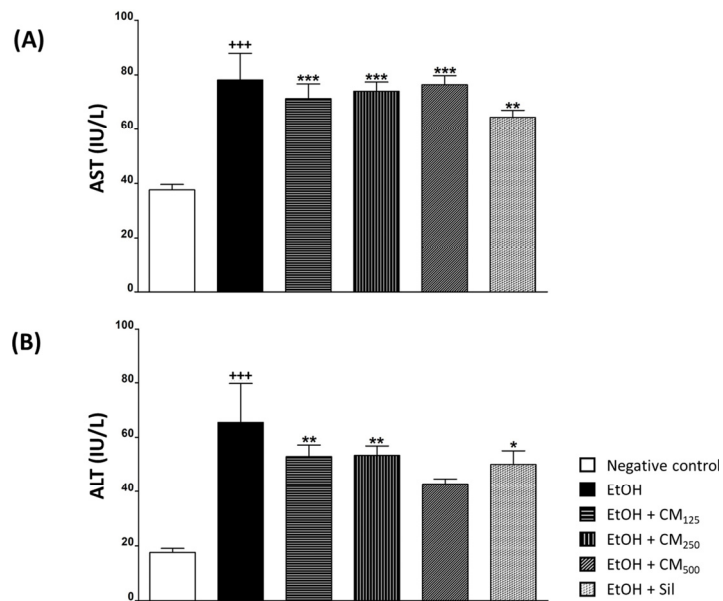


Fig. 5. Effects of *Cordyceps militaris* extract powder on the activities of (A) aspartate aminotransferase (AST) and (B) alanine aminotransferase (ALT) in ethanol feeding mice. ** and *** represent the significant differences at the $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to the negative control group. *, **, and *** denote the significant difference at the $p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively, compared to alcohol control group. EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

Alcohol concentration, ADH and ALDH activities

채취한 혈청에서 혈중 알코올 농도 측정된 결과, CM 250, 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서 알코올 대조군과 비교하여 혈중 알코올 농도가 감소하였다(Fig. 6). 또한 ADH 및 ALDH 활성의 분석 결과 음성대조군에 비해 알코올 대조군에서 높은 활성을 보였다. 반면 CM 250 mg·kg⁻¹ 이상 투여군에서 ADH 및 ALDH의 용량 상관성 있는 증가가 관찰되었고, silymarin을 투여한 양성대조군 보다 높은 ADH와 ALDH보다 활성을 나타내었다(Fig. 7). 이러한 결과는 *Cordyceps militaris* 추출 분말의 투여가 ADH 및 ALDH 효소의 활성과 명확한 상관관계를 보여주는 것으로 알코올 대사에 긍정적인 영향을 미쳤음을 확인할 수 있었다.

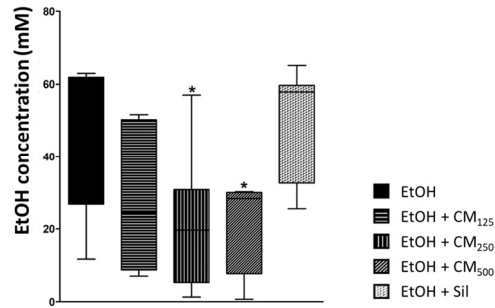


Fig. 6. Effect of *Cordyceps militaris* extract powder on alcohol concentration in ethanol feeding mice. * denotes the significant differences at the $p < 0.05$ compared to the alcohol control group. EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

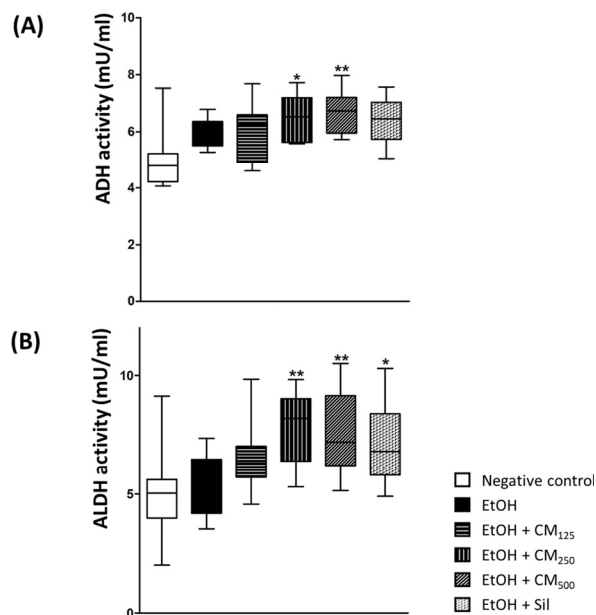


Fig. 7. Effect of *Cordyceps militaris* extract powder on the activities of hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) in ethanol feeding mice. (A) Activities of ADH and (B) Activities of ALDH. * and ** denote the significant differences at the $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, compared to alcohol control group. EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder; Sil, silymarin.

Anatomical pathology

알코올 대조군의 간에서 중심소엽성 간세포 비대(centrilobular hepatocellular hypertrophy) 및 중간영역(midzonal) 과 문맥주위(periportal)의 간세포내 공포가 약한(slight, grade 2) 정도로 관찰되었다. 그러나 CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군에서 간세포 비대 및 간세포내 거대공포가 알코올 대조군에 비하여 감소된 것을 확인하였다(Fig. 8).

CYP2E1는 ADH와 함께 알코올 분해에 관여하는 효소로 alcohol을 acetaldehyde를 산화하는데 고농도나 만성적 알코올 섭취 시 그 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(Bradford et al., 2005). CYP2E1 항체의 면역염색 결과, 알코올 대조군과 CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군이 음성대조군에 비하여 염색이 좀더 강하게 나타났으나, CM 500 mg·kg⁻¹ 투여군의 간에서는 알코올 대조군에 비하여 염색 정도가 약하게 나타났다(Fig. 9). 이러한 결과로 알코올 대조군에서는 대량의 알코올 투여 후 CYP2E1이 활성화되었으나, CM 투여군에서는 CYP2E1이 활성이 감소됨을 확인할 수 있

었다. 이러한 변화는 *Cordyceps militaris* 투여군에서 ADH 활성이 증가되어 알코올 분해가 이루어짐에 따라 오히려 알코올 투여군에 비해 CYP2E1이 활성이 감소한 것으로 판단된다. *Cordyceps militaris* 투여 시 ADH 활성이 증가되어 알코올 빠르게 acetaldehyde로 변환되며 이로 인해 CYP2E1의 활성을 경쟁적으로 억제시킨 것으로 판단된다.

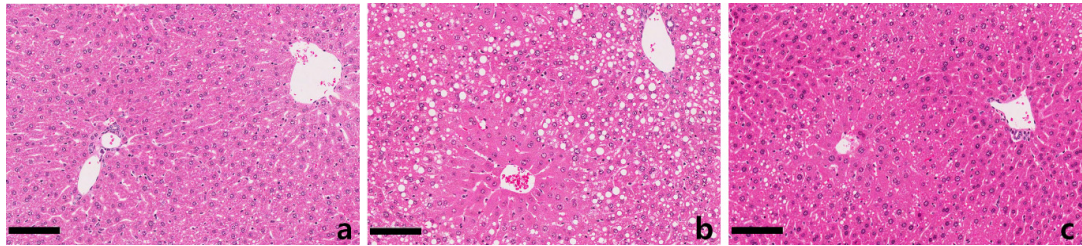


Fig. 8. Histopathological analysis of liver tissue by hematoxylin and eosin (H&E) staining (black bar = 100 μm). a: Negative control, b: EtOH model group exhibited marked widening centrilobular hepatocellular hypertrophy and hepatocellular vacuolation. c: EtOH + CM_{500} , the liver in $\text{CM } 500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ treated group was shown slight centrilobular hepatocellular hypertrophy and hepatocellular vacuolation (only midzonal). The size and number of hepatocellular vacuolation in $\text{CM } 500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ treated group (microvesicles) was decreased compare to EtOH model group (micro & macrovesicles). EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder.

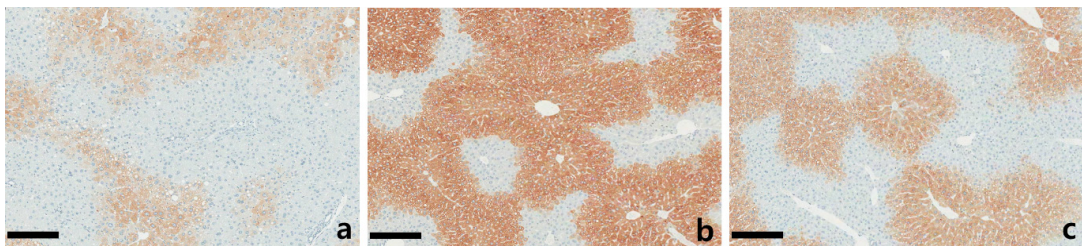


Fig. 9. Histopathological analysis of liver tissue by Immunohistochemistry by anti-CYP2E1 (black bar = 200 μm). a: Negative control, b: EtOH model group. The expression of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) by immunohistochemistry were highly dense in EtOH model group compare to negative control. c: EtOH + CM_{500} , the liver in $\text{CM } 500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ treated group was shown less dense compare to EtOH model group. EtOH, ethanol; CM, *Cordyceps militaris* extract powder.

Conclusion

본 연구는 수컷 C57BL/6J 마우스에 알코올 사료를 급여하여 알코올성 간손상을 유도하고, *Cordyceps militaris* 추출 분말을 0, 125, 250, 및 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 의 용량으로 경구투여한 결과, *Cordyceps militaris* 추출 분말 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 투여군에서 알코올성 간손상 유발 모델군에 비하여 간 비대 및 간세포내 거대공포의 감소가 관찰되었다. 이는 *Cordyceps militaris* 추출 분말 투여군에서 간의 절대 및 상대 중량 감소 및 ALT 수치의 상대적인 감소와 관련있는 것으로 판단된다.

알코올 분해 결과, *Cordyceps militaris* 추출 분말 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 투여군에서 혈중 알코올 농도 감소 및 ADH, ALDH 활성의 증가가 관찰되었다. Anti-CYP2E1으로 면역염색 결과, *Cordyceps militaris* 추출 분말 투여군에서 알코올성 간손상 모델군에 비하여 염색 정도가 감소하였다. 이상의 결과로 보아, *Cordyceps militaris* 추출 분말은 CYP2E1의 활성보다는 ADH와 ALDH 활성을 증가시킴으로써 혈중 알코올 농도를 감소시키며, 간 비대와 간세포내 거대공포를 감소시키는 간 보호 작용을 하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgements

본 연구는 본 연구는 안전성평가연구소(1711195885; B-S Lee)의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Bertola A. 2020. Mouse model of alcoholic steatohepatitis. *Kupffer Cells: Methods in Molecular Biology* 2164:145-157.
- Bertola A, Mathews S, Ki SH, Wang H, Gao B. 2013. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model). *Nature Protocol* 8:627-637.
- Bradford BU, Kono H, Isayama F, Kosyk O, Wheeler MD, Akiyama TE, Rusyn I. 2005. Cytochrome P450 CYP2E1, but not nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, is required for ethanol-induced oxidative DNA damage in rodent liver. *Hepatology* 41:336-344.
- Cha JY, Ahn HY, Cho YS, Je JY. 2013. Protective effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* on alcoholic hepatotoxicity in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology* 60:52-57.
- Eriksson CJP, Fukunaga T, Sarkola T, Chen WJ, Chen CC, Ju JM, Cheng AT, Yamamoto H, Kohlenberg-Muller K, Kimura M, et al. 2001. Functional relevance of human adh polymorphism. *Alcohol, Clinical and Experimental Research* 25:157-163.
- Gillessen A, Schmidt HH. 2020. Silymarin as supportive treatment in liver diseases: A narrative review. *Advances in Therapy* 37:1279-1301.
- Jeong JW, Choi YH. 2015. Anti-cancer properties and relevant mechanisms of Cordycepin, an active ingredient of the insect fungus *Cordyceps* spp. *Journal of Life Science* 25:607-614. [in Korean]
- Jo WS, Nam BH, Oh SJ, Choi YJ, Kang EY, Hong SH, Lee SH, Jeong MH. 2008. Hepatic protective effect and single-dose toxicity study of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protoclergia dreujtarsis*. *Korean Journal of Food Science and Technology* 40:106-110. [in Korean]
- Jung HD, Kim JD. 2021. Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of *Cordyceps militaris* extracts. *Journal of the Korean Society of Cosmetology* 27:932-939. [in Korean]
- Kim MS, Lee DH, Kang HS, Park HS, Jung S, Lee JW, Kwon KS, Kim PS, Kim HG, Shin YW, et al. 2004. Genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes and cytokines in patients with alcohol induced pancreatitis and alcoholic liver cirrhosis. *Korean Journal of Gastroenterol* 43:355-363. [in Korean]
- Kim YJ. 2008. Interpretation of liver function tests. *Korean Journal of Gastroenterol* 51:219-224. [in Korean]
- Kim YS, Park JY, Kwon YB, Lim DW, Song MK, Choi HY, Kim HC. 2013. Hepatoprotective Effects of *Hovenia dulcis* extract on acute and chronic liver injuries induced by alcohol and carbon tetrachloride. *Korean Journal of Herbology* 28:25-32. [in Korean]
- Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver. *Gastroenterology* 106:1105.
- Muriel P, Garcapiña T, Perez-Alvarez V, Mourelle M. 1992. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *Journal of Applied Toxicology* 12:439-442.
- Sin HJ, Choung SY, Kang S, Kwon HT, Kim BH. 2023. Anti-alcohol and anti-aldehyde hangover effect of aldehyde dehydrogenase related compounds in rat. *Journal of Environmental Health Sciences* 49:99-107. [in Korean]
- Yun MK, Jeong HC, Lee SJ, Lee S. 2023. Effect of lactobacillus fermented garlic extract powder on alcohol and acetaldehyde metabolism. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 52:357-362. [in Korean]
- Zakhari S. 2006. Overview: How is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health* 29:245-254.